

## 明 細 書

 $\beta$  キチン複合体およびその製造方法

## 5 技術分野

本発明は、 $\beta$  キチン複合体およびその製造方法に関する。さらに詳しくは、 $\beta$  キチンをホストとし、特定の化合物をゲスト化合物とし、 $\beta$  キチンの結晶構造におけるキチン分子鎖シート面の間にこのゲスト化合物を包接させることにより形成される包接化合物からなる $\beta$  キチン複合体およびその製造方法

10 に関する。

## 背景技術

医薬や農薬などの分野においては、必要なときに必要な量の有効成分を必要な場所へ送達するシステム、すなわちドラッグデリバリーシステムに対する研究が盛んに行われている。例えば、医薬の分野においては、除放射性製剤、時限放出製剤、ターゲティング製剤などの、製剤技術に基づくドラッグデリバリーシステムが知られている。除放射性製剤は、顆粒剤、錠剤、カプセルなどの種々の剤形により、薬剤の放出速度を調節するように調製されている。時限放出製剤は、服用して所定の時間経過後に有効成分を放出するように調製されている。ターゲティング製剤としては、大腸ターゲティング製剤、胃内滞留性製剤などが知られている。大腸ターゲティング製剤は、炎症性大腸疾患に対する局所治療などを目的として、大腸で薬剤を放出するように調製されている。

15

20

また、シクロデキストリンをホストとし、その疎水領域の空洞内に、プロスタグランジン、脂溶性ビタミンなどの酸化・加水分解を受け易い生理活性物質や、溶解性や吸湿性の激しい医薬品、その他の揮発性物質などをゲスト

25

として包接させたシクロデキストリン複合体も、ドラッグデリバリーシステムとして知られている。

しかしながら、製剤技術に基づくドラッグデリバリーシステムは、対象とする医薬や農薬などの剤形や使用する材質などに依存するので、限界がある。

5 また、上記シクロデキストリン複合体などの包接化合物は、ホスト（例えばシクロデキストリン）が有する分子規模の空間内にゲスト化合物を包接するものであるから、包接されるゲスト化合物の化学的性質がホストの化学的性質と適合し、さらに、ゲスト化合物の大きさ、形状などがこの空間に適合する必要がある。従って、化学的性質、大きさ、形状などが極めて多様な医薬品、農薬などの個々の薬剤に対して最適なホストを見出して、包接化合物を  
10 形成させることは極めて困難である。そのため、新たな包接化合物を形成し得るシステムが望まれている。

新たな包接化合物を形成するためのホストとして、シート状のキチン分子鎖が積層された構造を有している $\beta$ キチン（ $\beta$ -1, 4-ポリ-N-アセチル-D-グルコサミンの $\beta$ 型結晶）が注目されている。 $\beta$ キチンに関しては、Biopolymer, 第7巻, 281頁（1969年）に水の包接現象が報告され、また、ADVANCES IN CHITIN SCIENCE, 第2巻, 507-512頁（1997年）に種々の直鎖アルコール（メタノール、エタノール、n-プロパノール、n-ブタノール、およびn-オクタノール）の溶媒和結晶(crystallosolvates)が報告されている。  
15 本発明者らは、この $\beta$ キチンのシート間にゲスト化合物を包接することを検討し、アクリル酸、炭素数3～9の直鎖モノアミン、および炭素数2～10の直鎖ジアミンをゲスト化合物とした包接化合物からなる $\beta$ キチン複合体の合成に成功した（例えば、キチン・キトサン研究, 第8巻 (No. 2), 186頁（2002年）、キチン・キトサン研究, 第9巻 (No. 2), 100頁（2003年）、Biomacromolecules, 第4巻, 944 - 949頁（2003年））。  
20 25

しかし、上記文献では $\beta$ キチンに包接されるゲスト化合物が限られている、

あるいは包接化合物の製造方法が限られているなどの問題がある。

#### 発明の開示

本発明者らは、これまでの知見を基に、種々の化合物について、 $\beta$ キチン  
5 に包接され得るか否かについて鋭意検討を重ねた。その結果、 $\beta$ キチンの水  
酸基および／またはアミド結合と水素結合し得る官能基を有する化合物が、  
ゲスト化合物として、 $\beta$ キチンの積層構造を形成するキチン分子鎖シート面  
の間に取り込まれることにより、包接化合物（キチン複合体）を形成し得る  
こと、および新たな包接化合物（キチン複合体）の製造方法を見出して、本  
10 発明を完成した。

本発明は、 $\beta$ キチンをホストとし、該 $\beta$ キチンの水酸基および／またはア  
ミド基と水素結合を形成し得る官能基を有し、融点が60℃以上である化合  
物をゲスト化合物として形成された包接化合物からなる、 $\beta$ キチン複合体を  
提供する。

15 一つの実施態様においては、前記ゲスト化合物が有機化合物または有機金  
属化合物である。

別の実施態様においては、前記官能基が酸素、窒素、硫黄およびハロゲン  
原子からなる群から選択される少なくとも1つの原子を有している。

さらに別の実施態様では、前記官能基が水酸基、アルデヒド基、カルボキ  
20 シル基、カルボニル基、エーテル結合、エステル結合、ケタール結合、アミ  
ノ基、アミジノ基、イミノ結合、ジアゾ結合、アミド基、アミド結合、イミ  
ノエーテル結合、メルカプト基、チオカルボニル基、チオアルデヒド基、チ  
オエステル基、チオエーテル結合、チオケタール結合、およびハロゲン化ア  
ルキル基からなる群から選択される少なくとも1つの官能基である。

25 さらに別の実施態様では、前記ゲスト化合物が複数の官能基を有する。

また、異なる実施態様では、前記ゲスト化合物が複数の水酸基を有する糖

類である。

さらに別の実施態様では、前記ゲスト化合物がビタミン、補酵素、ホルモン、抗生物質、神経伝達物質、細胞間情報物質、免疫反応抑制因子、免疫反応促進因子、酵素阻害剤、有機生理活性物質、殺虫剤、抗菌剤、芳香剤、香料、および調味料からなる群から選択される少なくとも1つの化合物である。

本発明は、また、 $\beta$ キチンの水酸基および／またはアミド基と水素結合を形成し得る官能基を有し、融点が60℃以上であるゲスト化合物を融点以上かつ250℃未満に加熱して、ゲスト化合物の溶融物を調製する工程；および、該溶融物中に無水 $\beta$ キチンを浸漬する工程；を含む、 $\beta$ キチンをホストとする包接化合物からなる $\beta$ キチン複合体の製造方法を提供する。

さらに、本発明は、 $\beta$ キチンの水酸基および／またはアミド結合と水素結合を形成し得る官能基を有するゲスト化合物を溶剤中に溶解または懸濁させてゲストキャリア溶液を調製する工程；および該ゲストキャリア溶液中に $\beta$ キチンを浸漬する工程；を含む、 $\beta$ キチンをホストとする包接化合物からなる $\beta$ キチン複合体の製造方法を提供する。

一つの実施態様においては、前記溶剤が、ゲスト化合物に対して貧溶媒である。

また、べつの実施態様では、前記溶剤に対するゲスト化合物の溶解度が5質量%以下である。

さらに別の実施態様では、前記溶剤が、有機溶剤である。

本発明は、さらに、 $\beta$ キチンに、所望しないゲスト化合物を予め包接させる工程；および、所望のゲスト化合物を添加し、該所望しないゲスト化合物と置換して、該所望の化合物を包接する工程；を含む、 $\beta$ キチンをホストとする包接化合物からなる $\beta$ キチン複合体の製造方法を提供する。

一つの実施態様においては、前記所望のゲスト化合物と前記所望しないゲ

スト化合物との置換が、所望のゲスト化合物を溶剤に溶解または懸濁させてゲストキャリヤ液を調製する工程；および該ゲストキャリヤ液中に前記所望しないゲスト化合物を包接した $\beta$ キチンを浸漬する工程；を含む工程で行われる。

5

#### 図面の簡単な説明

図1は、 $\beta$ キチンと本発明の実施例3および実施例5～8で得られた $\beta$ キチン複合体Cおよび $\beta$ キチン複合体E～GのX線回折データを示すチャートである。

10 図2は、無水ピロメリット酸をゲスト化合物とした場合の、X線回折データを示すチャートである。

#### 発明を実施するための最良の形態

##### ( $\beta$ キチン)

15 キチンは、 $\beta$ -1, 4-ポリ-N-アセチル-D-ダルコサミンであり、 $\alpha$ 型結晶構造を有する $\alpha$ キチン、 $\beta$ 型結晶構造を有する $\beta$ キチンなどが含まれる。本発明においては、 $\beta$ 型結晶構造を有する $\beta$ キチンが用いられる。この $\beta$ キチンは、全てのキチン分子鎖が互いに平行にかつ同じ方向を向いており、キチン分子鎖間のファンデルワールス (Van der Waals) 力と水素結合によりキチン分子鎖がシートを形成している。そして、この各シートが、疎水結合により積層した構造 (シート状の積層構造) を有している。そして、  
20 これらシート間の結合はシート内の結合よりずっと弱いので、ある種の低分子物質は $\beta$ キチン結晶と接触すると上記のキチンシート間に入り込み、比較的安定な包接化合物を形成することができる。

25 本発明に用いられる $\beta$ キチンの分子量に、特に制限はない。 $\beta$ キチンの重合度は50以上であることが好ましく、100以上が好ましい。重合度は5

00以上、あるいは1000以上であってもよい。あまり大きいと取り扱いが困難になる傾向にあるので、重合度は2000以下であることが好ましい。藻類の培養物をホモジナイズして得られる $\beta$ キチンの重合度は、ほぼ1000前後であり、好ましく用いられる。

5       本発明で用いる $\beta$ キチンは、その一部のアセチル基が脱離していてもよい。

$\beta$ キチンは、市販されているものを用いてもよい。あるいは、タラシオシラ属に属する藻類（珪藻）を培養し、生産される $\beta$ キチンを回収し、精製したものをを用いてもよい。また、 $\beta$ キチンは、一般には水和物として存在するが、無水 $\beta$ キチンとして用いてもよい。

10       また、 $\beta$ キチンの錯体を形成させて、これをホストとして使用することもできる。 $\beta$ キチンと錯体を形成し得る物質として、ヘキシルアミン、水、エタノール、ジメチルスルホキシドなどが好ましく用いられる。

#### （ゲスト化合物）

15       本発明に用いられるゲスト化合物としては、 $\beta$ キチンの水酸基および／またはアミド結合と水素結合を形成し得る官能基を有する化合物が用いられる。ゲスト化合物としては、融点が60℃以上である化合物が好ましく、100℃以上である化合物がさらに好ましい。融点が60℃より低い化合物は、 $\beta$ キチンと包接化合物を形成させて $\beta$ キチン複合体とする意義に乏しい。

20       キチン分子と強く結合できるという観点から、ゲスト化合物の官能基は非共有電子対を有する酸素、窒素、硫黄およびハロゲン原子からなる群から選択される少なくとも1つの原子を有することが好ましい。このような原子を有する官能基としては、水酸基、アルデヒド基、カルボキシル基、カルボニル基、エーテル結合、エステル結合、ケタール結合、アミノ基、アミジノ基、イミノ結合、ジアゾ結合、アミド基、アミド結合、イミノエーテル結合、メルカプト基、チオカルボニル基、チオアルデヒド基、チオエステル基、チ

25

オエーテル結合、チオケタール結合、ハロゲン化アルキル基などが挙げられる。ゲスト化合物は、このような官能基を1または2以上含む。2以上の官能基を有することが、キチン分子との親和性の点から好ましい。

ゲスト化合物は、有機化合物や有機金属化合物であることが好ましいが、  
5 無機化合物であってもよい。

ゲスト化合物として用いられる有機化合物を例示すると、以下の通りである：ビタミンC（アスコルビン酸）、ビタミンH（ビタミンB複合体のp-アミノ安息香酸）、ビタミンB12（シアノコバラミン）、ビタミンPQQ（ピロロキノリンキノリン）などのビタミン類；ニコチンアミド、ビオシチン、  
10 チアミン二リン酸などの補酵素類；エピネフリン（副腎ホルモン剤）、エストロン（ステロイド系発情ホルモン）、プロゲステロン（ステロイド系黄体ホルモン）などのホルモン類；硫酸ペプロマイシン、マイトマイシンCなどの抗生物質類；インドメタシン（非ステロイド系消炎鎮痛剤）、ジアゼパム（抗不安薬、催眠薬、骨格筋弛緩薬、抗痙攣薬）などの神経伝達物質  
15 類；サイトカイン、ケモカインなどの細胞間情報物質類；メソトレキサート（代謝拮抗抗がん剤）、フルタミド（ホルモン系抗がん剤）などの免疫反応抑制因子類；インターロイキンなどの免疫反応促進因子；アンジオテンシン変換酵素阻害剤などの酵素阻害剤類；核酸合成系、タンパク質合成系を活性化するスperlミンなどの有機生理活性物質類；農薬；農業用あるいは家庭用の殺虫剤、殺菌剤、抗菌剤、殺菌剤などの抗菌性物質類；芳香剤；香辛料；  
20 および調味料。

有機金属化合物としては、カルボプラチン（白金錯体系抗がん剤）およびネダプラチン（白金錯体系抗がん剤）などを挙げることができる。

無機化合物としては、シスプラチン（白金錯体系抗がん剤）などが挙げら  
25 れる。

上記化合物は、同じ用途に使用する場合、あるいは複数の効果を期待して、

2種以上を組み合わせて用いることもできる。

(包接化合物の製造方法)

βキチンにゲスト化合物を包接させる方法としては、ゲスト化合物の溶融物中にβキチンを浸漬する方法（溶融物中浸漬法）、ゲスト化合物の溶解液または分散液中にβキチンを浸漬する方法（溶解液中浸漬法）、いったん所望しないゲスト化合物をキチン中に包接させて、βキチンのキチン分子鎖シート面間隔を広げ、次いで所望のゲスト化合物を添加し、この所望しないゲスト化合物と置換して、所望の化合物を包接させる方法（ゲスト置換法）などが挙げられる。

(1. 溶融物中浸漬法)

この方法は、ゲスト化合物の融点が60℃以上であり、かつ、融点以上に加熱しても熱的に安定で容易に溶融物となる場合、このゲスト化合物をその融点以上の温度で、かつゲスト化合物およびβキチンの分解温度以下の温度で加熱して溶融物とし、得られた溶融物中に無水βキチンを浸漬する方法である。βキチンは250℃以上では炭化されやすくなる。従って、この方法を用いる場合、ゲスト化合物の融点は250℃以下であることが好ましい。200℃以下であることが好ましく、150℃以下であることがさらに好ましい。この方法によれば、ゲスト化合物とホストであるβキチンとを、直接かつ高濃度で接触させることができ、速やかに複合体を形成できるという利点がある。

なお、この方法においては、βキチンは、無水物であってもよく、水和物であってもよい。βキチンは、一般的には水和物として存在する。無水βキチンは、βキチン水和物を105℃で2時間乾燥させることにより、得られる。

(2. 溶解液中浸漬法)



この方法は、ゲスト化合物を溶剤中に溶解または懸濁させてゲスト化合物の溶液（ゲストキャリヤ溶液）を調製し、このゲストキャリヤ溶液中に $\beta$ キチンを浸漬し、ゲスト化合物を包接させる方法である。用いる溶剤は、ゲスト化合物および $\beta$ キチンとの反応性がなく、そして、 $\beta$ キチンを溶解しない溶媒であることが必要である。ゲストキャリヤ溶液は、ゲスト化合物の全てが溶剤中に完全に溶解した溶液であってもよく、ゲスト化合物の一部が溶剤中に溶解した懸濁液であってもよい。

ゲストキャリヤ溶液中のゲスト化合物の濃度は、用いるゲスト化合物および溶剤との組合せによって種々変動し得る。使用する溶剤に対するゲスト化合物の溶解性は、特に制限がない。ゲスト化合物を容易に溶解し得る溶媒（易溶性溶媒）であってもよく、ゲスト化合物が溶解しにくい溶媒（難溶性溶媒）であってもよい。

ゲスト化合物の溶解度が低いほど、ゲストキャリア溶液は容易に飽和し、ゲスト化合物が $\beta$ キチンに包接され易くなる。従って、ゲスト化合物を $\beta$ キチンに効率良く包接させるために、難溶性溶媒を用いることが好ましい。溶剤に溶解するゲスト化合物の濃度が5.0質量%以下、より好ましくは0.2～2.0質量%の範囲であることが好ましい。

さらに、ゲストキャリヤ溶液を懸濁液の状態で使用すると以下の利点が生じる。すなわち、溶解したゲスト化合物が $\beta$ キチンに包接されると、懸濁液中のゲスト化合物が溶剤中に溶解して飽和状態が維持される。そのため、ゲスト化合物がより効率良く $\beta$ キチンに包接される。

このように、ゲスト化合物に対して貧溶媒である溶媒を用いてゲスト化合物と $\beta$ キチンとを反応させ、 $\beta$ キチン複合体を形成させる方法は、希少な生理活性物質などをゲスト化合物とする場合に特に有用である。この方法を採用することにより、ゲスト化合物の使用量が少なくて済み、また、製造工程での損失を可及的に低減できるという利点があるからである。さらに、この

方法は、包接されるゲスト化合物の量を調整できるので、包接化合物が薬剤である場合、薬剤量を調整することができる。従って、特に医薬のドラッグデリバリーシステムに有用であり得る。また、この方法は、ゲスト化合物の融点に左右されることがない。従って、上記溶融物中浸漬法では使用できない高い融点の物質、例えば無水ピロメリット酸（融点 286℃）などの包接に、有効である。

この溶解液中浸漬法で用いる溶剤は、ホスト化合物の種類や溶解度などに応じて適宜選択することができる。このような溶剤としては、例えば、水；メタノール、エタノール、イソプロパノール、エチレングリコール、グリセリンなどの一価または多価アルコール類；アセトン、メチルエチルケトンなどのケトン類；ベンゼン、トルエン、キシレン、ピリジンなどの芳香族炭化水素類；n-ヘキサン、シクロヘキサンなどの脂肪族炭化水素類；モノクロロメタン、ジクロロメタン、クロロホルムなどのハロゲン化炭化水素類；メチルアミン、エチルアミン、エチレンジアミンなどのアミン類；ギ酸、酢酸、プロピオン酸などの有機酸類；アセトニトリル、プロピオニトリルなどのニトリル類；N, N'-ジメチルホルムアミド、N, N'-ジメチルアセトアミド、N, N'-ジメチルスルホキシド、N, N'-ジメチルイミダゾリジンなどの非プロトン極性溶剤；などを例示することができる。

### (3. ゲスト置換法)

この方法は、βキチンに、まず、所望しないゲスト化合物を予め包接させる工程、ついで、所望のゲスト化合物を添加し、所望しないゲスト化合物と置換して、所望の化合物を包接する工程の2つの工程を含む方法である。この2つの工程には、それぞれ独立に、上記溶融物中浸漬法あるいは溶解液中浸漬法を適用することができる。

この方法においては、上記2つの工程を繰り返し、多段階ゲスト置換法としてもよい。例えば、最も包接し易い、所望しないゲスト化合物をまず包接

させ、ついで、次に包接しやすい、所望しないゲスト化合物に置換し、最終的に所望のゲスト化合物を包接させることもできる。特に、所望しないゲスト化合物を、所望のゲスト化合物で置換する方法として溶解液中浸漬法を適用する場合、溶剤として、所望しないゲスト化合物に対しては比較的易溶性であり、所望するゲスト化合物に対しては比較的難溶性の溶剤を用いることにより、より効率良く所望しないゲスト化合物を所望のゲスト化合物と置換することができる。

この多段階ゲスト置換法においては、順次、シート間の間隔が大きくなるように、所望しないゲスト化合物を選択して用い、最後の所望のゲスト化合物で置換する方法が好ましい。

#### ( $\beta$ キチン複合体)

本発明の $\beta$ キチン複合体は、 $\beta$ キチンをホストとし、また、種々の化合物をゲスト化合物とする包接化合物である。この $\beta$ キチン複合体（包接化合物）は、キチンの結晶格子を形成するキチン分子鎖シート面の間にゲスト化合物が挟み込まれた層間化合物である。このような構造を有する $\beta$ キチン複合体は、ゲスト化合物が周囲の液体に溶解し易い場合、この $\beta$ キチン複合体は、易溶性のゲスト化合物が周囲の液体に溶解して拡散する速度を制御し得る。また、反対に、ゲスト化合物が周囲の液体に溶解しにくい場合、溶液あるいは懸濁液として投与することが難しい場合、 $\beta$ キチンを粉末、フィルム、繊維状成形物などの形状とし、これにゲスト化合物を包接させて、 $\beta$ キチン複合体とすることができる。このような $\beta$ キチン複合体は、生体に供給した場合、散逸あるいは組織への刺激などの望ましくない現象を抑制することができる。そのため、例えば生理活性物質をゲスト化合物としたドラッグデリバリーシステムを構築する上で極めて有用であると考えられる。従って、本発明の $\beta$ キチン複合体は、医薬や農薬を始めとして、農業用や家庭用などの

殺菌剤、殺黴剤、殺虫剤、食品、芳香剤などとして有用である。

(実施例)

以下、実施例に基づいて、本発明を具体的に説明するが、本発明はこれら  
5 の実施例に制限されるものではない。

(調製例： $\beta$ キチンの調製)

中心目珪藻であるタラシオシラ・ワイスフロギイ (*Thalassiosira weissf  
logii*; CCMP 1051) 株を用いた。人工海水培地 (f/2 培地) に同株を接種  
し、25℃で、通気しながら、5000ルクスの照度で2週間培養した。な  
10 お、f/2 培地の組成は以下の表1に示す通りである。

表1

化合物	ストック溶液濃度	使用量
NaNO <sub>3</sub>	75.0g/L H <sub>2</sub> O	1.0ml
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	5.0g/L H <sub>2</sub> O	1.0ml
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub>	30.0g/L H <sub>2</sub> O	1.0ml
f/2微量金属溶液	注1	1.0ml
f/2ビタミン溶液	注2	0.5ml
フィルター濾過した海水で1Lに調整		

注1 f/2微量金属溶液

無機金属	ストック溶液濃度	使用量
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	—	3.15g
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	—	4.36g
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	9.8g/L H <sub>2</sub> O	1.0ml
Na <sub>2</sub> MO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	6.3g/L H <sub>2</sub> O	1.0ml
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	22.0g/L H <sub>2</sub> O	1.0ml
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	10.0g/L H <sub>2</sub> O	1.0ml
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	180.0g/L H <sub>2</sub> O	1.0ml
フィルター濾過した海水で1Lに調整		

注2 f/2ビタミン溶液

ビタミン	ストック溶液濃度	使用量
ビタミンB12	1.0g/L H <sub>2</sub> O	1.0ml
ビオチン	0.1g/L H <sub>2</sub> O	10.0ml
チアミン塩酸塩	—	200mg
フィルター濾過した海水で1Lに調整		

得られたタラシオシラの培養物を機械的に振盪して藻体から $\beta$ キチン棘条

を脱離させた。振盪後、 $1000 \times g$ の遠心分離を行い、上清をデカンテーションして処理し、 $\beta$ キチンを回収した。得られた粗製 $\beta$ キチンを5質量%の水酸化カリウム水溶液に分散し、室温で12時間放置した。ついで、 $\beta$ キチンを水酸化カリウム溶液からろ過により回収した。回収した $\beta$ キチンをメ  
5 タノールに再分散し、 $60^\circ\text{C}$ 、2時間保持した。再度、 $\beta$ キチンを濾別し、 $0.1 \text{ mol/L}$ の塩酸水溶液で1時間煮沸し、ついで、 $0.34$ 質量%亜塩素酸ナトリウム水溶液に分散して、 $80^\circ\text{C}$ 、2時間保持した。 $\beta$ キチンをろ過により回収し、 $1$ 質量%フッ化水素酸水溶液に分散して室温で12時間放置した。ろ過により $\beta$ キチンを回収し、室温で乾燥した。

10 得られた精製 $\beta$ キチンを室温で乾燥し、 $\beta$ キチン水和物を得た。無水 $\beta$ キチンは、 $\beta$ キチン水和物を $105^\circ\text{C}$ で2時間乾燥させることにより、調製した。

X線回折分析用のサンプルは、以下のようにして調製した。まず、乾燥 $\beta$ キチン $5 \text{ mg}$ を水 $7 \text{ ml}$ に分散させた。この $\beta$ キチンの分散液に、 $1$ 質量%  
15 のフィブリノーゲン水溶液 $3 \text{ ml}$ を加え、ゆっくりと混合した。この混合液に濃トロンビン水溶液(約 $2$ 質量%)を数滴滴下し、ついで、混合して、シャーレに広げてゲル化させた。ゲル化により、厚さ約 $3 \text{ mm}$ のゲルが得られた。このゲルを $5 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}$ の短冊状に切り、ろ紙上で水を除きながら、手で3倍程度にゆっくりと延伸した。延伸したゲルを $1\%$ 水酸化カリウム水  
20 溶液に浸漬し、フィブリノーゲンを緩ませ、さらに $1.5 \sim 2$ 倍(もとの $4.5 \sim 6$ 倍)に延伸した。得られた糸状の試料を $2 \text{ cm}$ 程度に切断し、 $10 \text{ ml}$ の $5\%$ 水酸化カリウム溶液に浸漬した。水酸化カリウム溶液を加温し、 $50^\circ\text{C}$ で10分間保持することにより、フィブリノーゲンを溶解させた。次いで、糸状のキチン試料を $10 \text{ ml}$ の蒸留水に浸漬し、水を数回交換して $\text{KOH}$   
25  $\text{H}$ を除去し、乾燥した。このキチン試料を、X線回折分析装置を用いて分析した。

(実施例1：p-フェニレンジアミンの $\beta$ キチン複合体Aの調製)

ゲスト化合物であるp-フェニレンジアミン（融点140℃）を150℃に加熱して溶融した。この溶融物中に上記調製例で調製した無水 $\beta$ キチンを30分間浸漬した。ついで、 $\beta$ キチンを溶融物中から引き上げ、ろ紙で素早く $\beta$ キチンの表面を拭って、 $\beta$ キチンの外表面に付着した溶融物を取り除いた。これにより、p-フェニレンジアミンを包接した $\beta$ キチン複合体（ $\beta$ キチン複合体A）が得られた。

p-フェニレンジアミンが包接されたことの確認は、X線回折分析により $\beta$ キチンの結晶構造におけるキチン分子鎖シート面間隔（シート面間隔）を測定することによって、行った。

無水 $\beta$ キチンのシート面間隔に対応するピークの回折角（ $2\theta$ ）は、9.6度であった。この値から、無水 $\beta$ キチンのシート面間隔（ $d$ ）を、ブラッグの式（ $2d\sin\theta=\lambda$ ）から求めると0.92nmであった。なお、 $\lambda$ は測定に用いたX線の波長0.154nmである。

他方、 $\beta$ キチン-p-フェニレンジアミン複合体Aのシート面間隔に対応するピークの回折角（ $2\theta$ ）は、7.1度であった。この値から計算すると、 $\beta$ キチン複合体Aのシート面間隔（ $d$ ）は、1.296nmであった。このX線回折分析の結果から、 $\beta$ キチン複合体Aは、無水 $\beta$ キチンのキチン分子鎖シート面間が広がっており、p-フェニレンジアミンが包接されていることが確認された。

p-フェニレンジアミンの包接量（ゲスト包接量）は、 $\beta$ キチン複合体Aを適量のエタノールに浸漬してp-フェニレンジアミンを抽出し、ガスクロマトグラフィーで分析して求めた。 $\beta$ キチン複合体Aのゲスト包接量は、キトビオース単位当りp-フェニレンジアミン1分子（ゲスト/ $\beta$ キチン=108/406=0.266）であった。

(実施例 2 : p-フェニレンジアミンの  $\beta$  キチン複合体 B の調製)

p-フェニレンジアミン (ゲスト化合物) を 1 質量% となるようにベンゼンに溶解してゲストキャリヤ溶液を調製した。このゲストキャリヤ溶液中に、  
5 上記調製例で調製した  $\beta$  キチン水和物を 25°C で 30 分間浸漬し、ゲストキャリヤ溶液中から引き上げた。 $\beta$  キチンの表面をろ紙で素早く拭いて  $\beta$  キチンの外表面に付着したゲストキャリヤ溶液を取り除き、p-フェニレンジアミンを包接した  $\beta$  キチン ( $\beta$  キチン複合体 B) を得た。

得られた  $\beta$  キチン複合体 B について、実施例 1 と同様にして、X 線回折分析により  $\beta$  キチン複合体 B のシート面間隔を測定した。 $\beta$  キチン複合体 B のシート面間隔は、1.30 nm であり、無水  $\beta$  キチンのシート面間隔 0.92 nm より大きくなっていた。この結果から、 $\beta$  キチンをホストとし、p-フェニレンジアミンをゲストとする包接化合物である  $\beta$  キチン複合体 B が得られたことが判明した。

15 この複合体 B は、実質的に実施例 1 の複合体 A と同一である。従って、この実施例 2 の方法は、ゲスト化合物である p-フェニレンジアミンを、150°C という高温に加熱することなく、室温で、溶液から  $\beta$  キチンに包接させることができるという、優れた効果を発揮できる。

20 (実施例 3 : p-フェニレンジアミンの  $\beta$  キチン複合体 C の調製)

ゲストキャリヤ溶液を調製するための溶剤としてエタノールを用いたこと以外は、実施例 2 と同様にして、 $\beta$  キチン複合体 C を得た。 $\beta$  キチン複合体 C の X 線回折分析のデータを、図 1 に示す。 $\beta$  キチン複合体 C のシート面間隔は、無水  $\beta$  キチンのシート面間隔より大きくなっていた。

25 (実施例 4 : アクリルアミドの  $\beta$  キチン複合体 D の調製)

融点が86℃のアクリルアミド（ゲスト化合物）を0.3質量%となるようにベンゼンに溶解してゲストキャリヤ溶液を調製した。このゲストキャリヤ溶液中に、上記調製例で調製した $\beta$ キチン水和物を30分間浸漬し、ゲストキャリヤ溶液中から引き上げた。引き上げた $\beta$ キチンの表面をろ紙で素早く拭って $\beta$ キチンの外表面に付着したゲストキャリヤ溶液を取り除き、アクリルアミドを包接した $\beta$ キチン（ $\beta$ キチン複合体D）を得た。

得られた $\beta$ キチン複合体Dについて、実施例1と同様にして、X線回折分析により $\beta$ キチンのシート面間隔を測定した。 $\beta$ キチン複合体Dのシート面間隔は1.27nmであり、無水 $\beta$ キチンのシート面間隔0.92nmよりも大きくなっていた。この結果から、 $\beta$ キチンをホストとし、アクリルアミドをゲストとする包接化合物である $\beta$ キチン複合体Dが得られたことが判明した。

（実施例5：アクリルアミドの $\beta$ キチン複合体Eの調製）

実施例4のゲストキャリヤ溶液を50℃に維持し、 $\beta$ キチンのヘキシルアミン錯体を浸漬して $\beta$ キチン複合体を調製したこと以外は、上記実施例4と同様にして、アクリルアミドを包接した $\beta$ キチン複合体Eを得た。 $\beta$ キチン複合体Eのシート面間隔は無水 $\beta$ キチンのシート面間隔よりも大きくなっていた。この $\beta$ キチン複合体EのX線回折分析のデータを図1に示す。なお、 $\beta$ キチンのヘキシルアミン錯体は、 $\beta$ キチンを室温のヘキシルアミンに浸漬して、調製した。

（実施例6：p-アミノ安息香酸の $\beta$ キチン複合体Fの調製）

融点が186℃のp-アミノ安息香酸（ゲスト化合物）を0.2質量%となるようにベンゼンに溶解してゲストキャリヤ溶液を調製した。このゲストキャリヤ溶液中に、上記調製例で調製した $\beta$ キチン水和物を50℃で30分



間浸漬し、ゲストキャリヤ溶液中から引き上げた。引き上げた $\beta$ キチンの表面をろ紙で素早く拭って $\beta$ キチンの外表面に付着したゲストキャリヤ溶液を取り除き、 $p$ -アミノ安息香酸を包接した $\beta$ キチン（ $\beta$ キチン複合体F）を得た。

- 5       得られた $\beta$ キチン複合体Fについて、実施例1と同様にして、X線回折分析により $\beta$ キチンのシート面間隔を測定した。 $\beta$ キチン複合体Fのシート面間隔は1.31nmであり、無水 $\beta$ キチンのシート面間隔0.92nmよりも大きくなっていた。この結果から、 $\beta$ キチンをホストとし、 $p$ -アミノ安息香酸をゲストとする包接化合物である $\beta$ キチン複合体Fが得られたことが
- 10       判明した。この $\beta$ キチン複合体FのX線回折分析のデータを図1に示す。

（実施例7： $\alpha$ -D-グルコースの $\beta$ キチン複合体Gの調製）

- 融点が146℃の無水 $\alpha$ -D-グルコース（ゲスト化合物）を7質量%となるようにピリジンに溶解してゲストキャリヤ溶液を調製した。このゲスト
- 15       キャリヤ溶液中に、上記調製例で調製した $\beta$ キチン水和物を室温で30分間浸漬し、ゲストキャリヤ溶液中から引き上げた。引き上げた $\beta$ キチンの表面をろ紙で素早く拭って $\beta$ キチンの外表面に付着したゲストキャリヤ溶液を取り除き、 $\alpha$ -D-グルコースを包接した $\beta$ キチン（ $\beta$ キチン複合体G）を得た。

- 20       得られた $\beta$ キチン複合体Gについて、実施例1と同様にして、X線回折分析により $\beta$ キチンのシート面間隔を測定した。 $\beta$ キチン複合体Gのシート面間隔は1.31nmであり、無水 $\beta$ キチンのシート面間隔0.92nmよりも大きくなっていた。この結果から、 $\beta$ キチンをホストとし、 $\alpha$ -D-グルコースをゲストとする包接化合物である $\beta$ キチン複合体Gが得られたことが
- 25       判明した。この $\beta$ キチン複合体GのX線回折分析のデータを図1に示す。

(実施例 8 : 無水ピロメリット酸の  $\beta$  キチン複合体 H の調製)

ゲスト化合物である無水ピロメリット酸 (融点  $285^{\circ}\text{C}$ ) の飽和アセトン溶液を調製した。この飽和アセトン／無水ピロメリット酸溶液に、 $\beta$  キチンのヘキシルアミン錯体を 1 時間浸漬した。ついで、 $\beta$  キチンを溶融物中から引き上げ、ろ紙で素早く  $\beta$  キチンの表面を拭いて、 $\beta$  キチンの外表面に付着した溶融物を取り除いた。これにより、無水ピロメリット酸を包接した  $\beta$  キチン複合体 ( $\beta$  キチン複合体 H) が得られた。

得られた  $\beta$  キチン複合体 H について、実施例 1 と同様にして、X 線回折分析により  $\beta$  キチンのシート面間隔を測定した。 $\beta$  キチン複合体 H のシート面間隔は  $1.29\text{ nm}$  であり、無水  $\beta$  キチンのシート面間隔  $0.92\text{ nm}$  よりも大きくなっていた。この結果から、 $\beta$  キチンをホストとし、無水ピロメリット酸をゲストとする包接化合物である  $\beta$  キチン複合体 H が得られたことが判明した。 $\beta$  キチン複合体 H の X 線回折分析のデータを図 2 に示す。なお、 $\beta$  キチンのヘキシルアミン錯体を無水ピロメリット酸に浸漬したときの  $\beta$  キチン複合体 H<sub>0</sub> の X 線回折分析のデータを図 2 に示す。

産業上の利用可能性

本発明の  $\beta$  キチン複合体は、 $\beta$  キチンをホストとし、この  $\beta$  キチンの水酸基および／またはアミド基と水素結合を形成し得る官能基を有し、融点が  $60^{\circ}\text{C}$  以上である化合物をゲスト化合物として形成された包接化合物からなる。このゲスト化合物として、例えば生理活性物質を選択することにより、この生理活性物質のドラッグデリバリーシステムを構築することができる。本発明の  $\beta$  キチン複合体は、特に医薬や農薬の分野で極めて有用である。

また、本発明の  $\beta$  キチン複合体の製造方法は、このような  $\beta$  キチン複合体を工業的に容易に製造することができるものであり、産業上、特に医薬や農薬の分野で極めて有用なものである。

## 請求の範囲

1.  $\beta$ キチンをホストとし、該 $\beta$ キチンの水酸基および／またはアミド基と水素結合を形成し得る官能基を有し、融点が60℃以上である化合物をゲスト化合物として形成された包接化合物からなる、 $\beta$ キチン複合体。  
5
2. 前記ゲスト化合物が有機化合物または有機金属化合物である、請求項1に記載の $\beta$ キチン複合体。
- 10 3. 前記官能基が酸素、窒素、硫黄およびハロゲン原子からなる群から選択される少なくとも1つの原子を有する、請求項1または2に記載の $\beta$ キチン複合体。
- 15 4. 前記官能基が水酸基、アルデヒド基、カルボキシル基、カルボニル基、エーテル結合、エステル結合、ケタール結合、アミノ基、アミジノ基、イミノ結合、ジアゾ結合、アミド基、アミド結合、イミノエーテル結合、メルカプト基、チオカルボニル基、チオアルデヒド基、チオエステル基、チオエーテル結合、チオケタール結合、およびハロゲン化アルキル基からなる群から選択される少なくとも1つの官能基である、請求項1から3のいずれかの項  
20 に記載の $\beta$ キチン複合体。
5. 前記ゲスト化合物が複数の官能基を有する、請求項1から4のいずれかの項に記載の $\beta$ キチン複合体。
- 25 6. 前記ゲスト化合物が複数の水酸基を有する糖類である、請求項1から5のいずれかの項に記載の $\beta$ キチン複合体。

7. 前記ゲスト化合物がビタミン、補酵素、ホルモン、抗生物質、神経伝達物質、細胞間情報物質、免疫反応抑制因子、免疫反応促進因子、酵素阻害剤、有機生理活性物質、殺虫剤、抗菌剤、芳香剤、香辛料、および調味料からなる群から選択される少なくとも1つの化合物である、請求項1から6のいずれかの項に記載の $\beta$ キチン複合体。

8.  $\beta$ キチンの水酸基および／またはアミド基と水素結合を形成し得る官能基を有し、融点が60℃以上であるゲスト化合物を融点以上かつ250℃未満に加熱して、ゲスト化合物の熔融物を調製する工程；および、該熔融物中に無水 $\beta$ キチンを浸漬する工程；を含む、 $\beta$ キチンをホストとする包接化合物からなる $\beta$ キチン複合体の製造方法。

9.  $\beta$ キチンの水酸基および／またはアミド基と水素結合を形成し得る官能基を有するゲスト化合物を溶剤中に溶解または懸濁させてゲストキャリヤ溶液を調製する工程；および

該ゲストキャリヤ溶液中に $\beta$ キチンを浸漬する工程；を含む、 $\beta$ キチンをホストとする包接化合物からなる $\beta$ キチン複合体の製造方法。

10. 前記溶剤が、ゲスト化合物に対して貧溶媒である、請求項9に記載の $\beta$ キチン複合体の製造方法。

11. 前記溶剤に対するゲスト化合物の溶解度が5質量%以下である、請求項9または10に記載の $\beta$ キチン複合体の製造方法。

12. 前記溶剤が、有機溶剤である請求項9から11のいずれかの項に記載

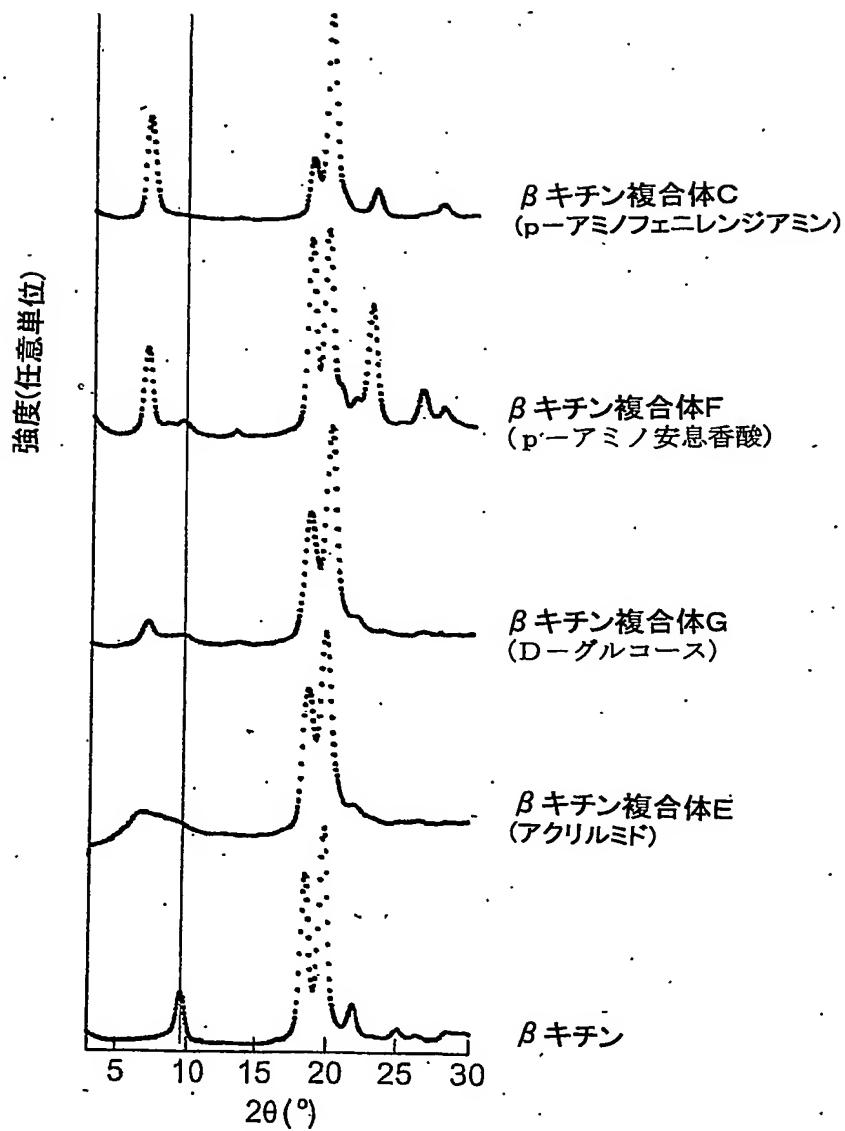
の  $\beta$  キチン複合体の製造方法。

1 3.  $\beta$  キチンに、所望しないゲスト化合物を予め包接させる工程；および、  
所望のゲスト化合物を添加し、該所望しないゲスト化合物と置換して、該  
5 所望の化合物を包接する工程；を含む、 $\beta$  キチンをホストとする包接化合物  
からなる  $\beta$  キチン複合体の製造方法。

1 4. 前記所望のゲスト化合物と前記所望しないゲスト化合物との置換が、  
所望のゲスト化合物を溶剤に溶解または懸濁させてゲストキャリヤ液を調製  
10 する工程；および該ゲストキャリヤ液中に前記所望しないゲスト化合物を包  
接した  $\beta$  キチンを浸漬する工程；を含む工程で行われる、請求項 1 3 に記載  
の  $\beta$  キチン複合体の製造方法。

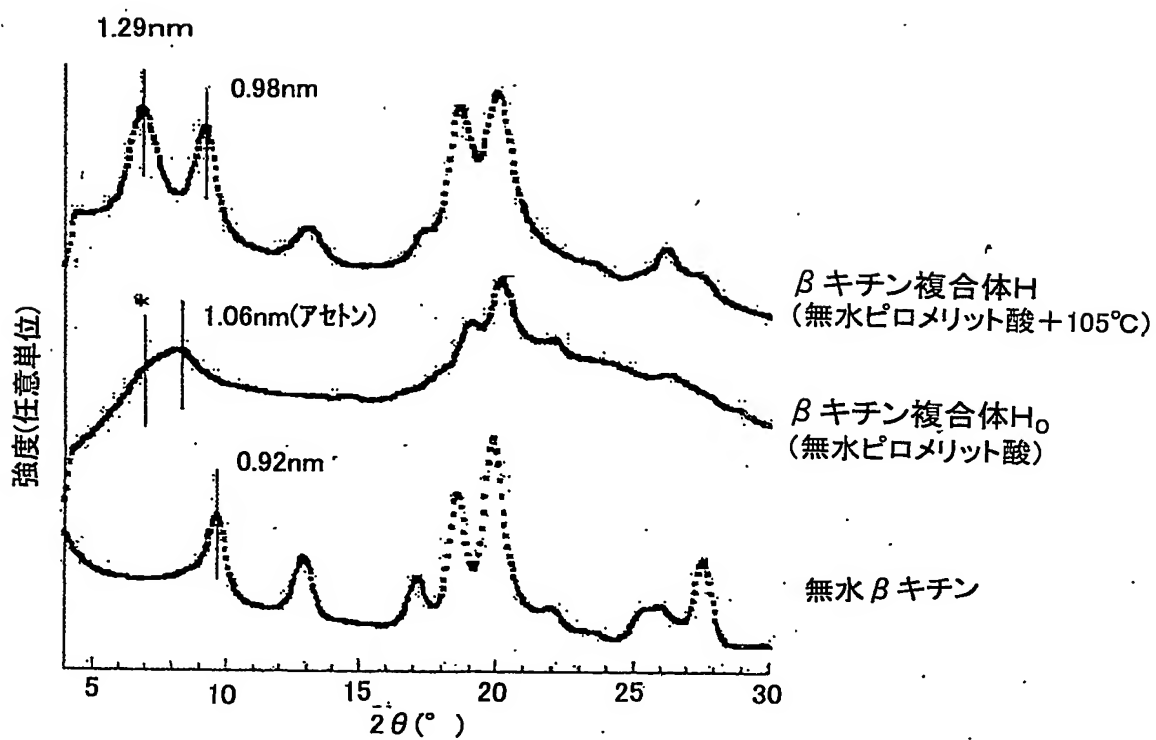
1 / 2

第1図



2 / 2

第2図



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/007349

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>7</sup> G08B37/08, A61K47/36

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>7</sup> G08B37/08, A61K47/36

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2005
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2005	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2005

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAplus (STN), REGISTRY (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	NOISHIKI, Yasutomo et al., Inclusion Complex of $\beta$ -Chitin and Aliphatic Amines, Biomacromolecules, 2003, Vol.4, No.4, pages 944 to 949	1-5, 7, 8 6, 9-14
X A	JP 2003-267955 A (Kurita Water Industries Ltd.), 25 September, 2003 (25.09.03), Full text (Family: none)	1-5, 9-12 6-8, 13, 14



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
27 May, 2005 (27.05.05)Date of mailing of the international search report  
14 June, 2005 (14.06.05)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.



## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.<sup>7</sup> C08B37/08, A61K47/36

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.<sup>7</sup> C08B37/08, A61K47/36

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2005年
日本国実用新案登録公報	1996-2005年
日本国登録実用新案公報	1994-2005年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

Caplus (STN), REGISTRY (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A	NOISHIKI, Yasutomo et al., Inclusion Complex of $\beta$ -Chitin and Aliphatic Amines, Biomacromolecules, 2003, Vol. 4, No. 4, p944-949	1-5, 7, 8 6, 9-14
X A	JP 2003-267955 A (栗田工業株式会社) 2003.09.25, 全文 (ファミリーなし)	1-5, 9-12 6-8, 13, 14

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

27.05.2005

国際調査報告の発送日

14.6.2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

関 政立

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

4C

8619